

## ESTUDIO DE LA ADICIÓN DE ACEITES ESENCIALES SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO DE DIETAS DE DISTINTA DEGRADABILIDAD EMPLEANDO LIQUIDO RUMINAL DE CAPRINO

Martínez<sup>1</sup>, G., Abecia<sup>1</sup>, L., Martín-García<sup>1</sup>, A.I., Ramos-Morales<sup>1</sup>, E., Molina-Alcaide<sup>1</sup>, E., Ranilla<sup>2</sup>, M.J. y Yáñez-Ruiz<sup>1</sup>, D. R.

<sup>1</sup>Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008, Granada.

<sup>2</sup>IGM/Universidad de León, Departamento Producción Animal, 24071, León.

[gonzalo.martinez@eez.csic.es](mailto:gonzalo.martinez@eez.csic.es)

### INTRODUCCIÓN

La prohibición del uso de los antibióticos como promotores del crecimiento en la alimentación del ganado en Europa (Regulation, 2003) ha estimulado la búsqueda de compuestos alternativos. En el caso de los animales ruminantes, existen numerosos productos con una gran potencial para modificar la fermentación ruminal, entre ellos diversos compuestos del ajo, aceites esenciales (Calsamiglia et al., 2007), ácidos orgánicos (Carro y Ranilla, 2007) y otros extractos de plantas (Hart et al., 2008). Sin embargo, los resultados obtenidos hasta ahora son variables y contradictorios, y los trabajos se restringen al ganado vacuno y ovino. Parte de esa variabilidad está relacionada con la naturaleza de la dieta que el animal recibe y, fundamentalmente, con su degradabilidad en el rumen (Hart et al., 2008). Por otro lado, el ecosistema microbiano del rumen de caprino presenta ciertas peculiaridades con respecto a los del vacuno y ovino (Kamra, 2005) por lo que cualquier intento de introducir aditivos en la dieta del ganado caprino requiere del estudio de sus efectos específicos en esta especie animal. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de distintas cantidades de aceites esenciales sobre la fermentación ruminal *in vitro* de dietas de distinta degradabilidad, utilizando líquido ruminal de caprino como inóculo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon cultivos no renovados de microorganismos ruminales usando el sistema Ankom<sup>RF</sup> Gas Production (Ankom, NY, EEUU) para incubar durante 24 horas dos dietas a base de heno de alfalfa y un concentrado (1:1), que contenía habas y avena (dieta R) o torta de girasol y maíz (dieta L) como fuentes principales de proteína y almidón, respectivamente. Se realizaron tres series de incubaciones y en cada una se incubaron muestras (1g, 1mm) en frascos de vidrio de 310 ml de capacidad, con o sin aditivo, heno de alfalfa como estándar y un blanco. Los aditivos estudiados fueron carvacrol, eugenol y cinamaldehído, que se adicionaron en cuatro dosis (40, 80, 160 y 320  $\mu$ l/l) y, como control positivo, un producto de síntesis (PS) con probada actividad metanogénica y adicionado a tres dosis diferentes (40, 80 y 160  $\mu$ l/l). A cada frasco se le adicionaron 120 ml de un medio de cultivo compuesto por líquido ruminal filtrado y una disolución tampón (Menke and Steingass, 1988) en una relación 1:3. El líquido ruminal se obtuvo de 3 cabras de raza granadina, canuladas en rumen y alimentadas a base de heno de alfalfa y avena. El contenido ruminal de cada animal se extrajo antes de la toma de alimento, se filtró a través de 2 capas de gasa aplicando CO<sub>2</sub> y se mezcló con la disolución tampón. Los frascos se mantuvieron en un baño a 39° C, se abrieron a las 24 horas de incubación y se tomaron alícuotas del contenido de cada botella para analizar su contenido en ácidos grasos volátiles (AGV) mediante cromatografía de gases (Isac et al., 1994). Durante las 24 horas de incubación a presión en los frascos se registró automáticamente y los valores se utilizaron para calcular el volumen total de gas producido mediante la fórmula  $V=V_j * P_{psi} * 0.068004084$ . El análisis estadístico de los datos experimentales se realizó mediante un modelo univariante GLM del programa SPSS 19.0<sup>®</sup>. Las diferencias entre medias se establecieron utilizando el test DMS ( $P < 0.05$ ).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adición de 320  $\mu$ l/l de carvacrol disminuyó ( $P < 0,001$ ) la producción de gas acumulada a las 24 horas (Tabla 1) con ambas dietas lo que concuerda con las observaciones de otros autores (Macheboeuf et al., 2008). Sin embargo, la producción de AGV solo disminuyó ( $P < 0,05$ ) con la dieta L, lo que también observaron Busquet et al. (2006), mientras que la proporción acético:propiónico no se vio afectada ( $P > 0,05$ ). La adición de 320  $\mu$ l/L de cinamaldehído disminuyó ( $P = 0,046$ ) la producción de gas promovida por la dieta R tras 24 horas de incubación respecto a la dosis de 160  $\mu$ l/L. Con la dieta L solo se observó una disminución ( $P = 0,014$ ) de la producción de gas con la dosis máxima de carvacrol respecto al control (0), lo que concuerda con observaciones de Macheboeuf et al. (2008). La producción de AGV y la proporción acético:propiónico no sufrieron ningún efecto

( $P>0,05$ ) lo que contradice observaciones anteriores, (Busquet et al. 2006; Macheboeuf et al., 2008), tal vez debido a las diferentes dosis utilizadas. Ninguna de las dosis de eugenol modificó ( $P=0,333$ ) la producción de gas a las 24 horas, ni la producción de AGV, ni la relación acético:propiónico con ninguna de las dos dietas estudiadas. Por el contrario, Busquet et al. (2006) observaron una disminución de la producción de AGV con las dosis superiores de ese compuesto. Por último, el aditivo de síntesis produjo un descenso ( $P=0,024$ ) en la producción de gas promovida por la dieta R a la dosis de 80 respecto al control, disminuyendo ( $P=0,047$ ) también la proporción de acético:propiónico respecto al control a la dosis 40. Con la dieta L este compuesto redujo ( $P=0,004$ ) la producción de gas a las 24 horas y la relación acético:propiónico ( $P=0,021$ ) independientemente de la dosis empleada.

La interacción dieta-dosis no fue significativa ( $P>0,05$ ) en ninguno de los compuestos estudiados. Cabe destacar el efecto del tipo de dieta utilizada con respecto a la disminución de la producción de gas a las 24 horas, como ocurre con el carvacrol y el cinamaldehído ( $P<0,001$ ), siendo en la dieta L en la que se observó una mayor disminución.

Estos resultados muestran que determinadas dosis de carvacrol y cinamaldehído tienen el potencial de modificar la fermentación ruminal en caprino y que este potencial depende, en gran medida, de la dieta que el animal ingiera.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 2006. J. of Dairy Sci. 89:761-771.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. & Ferret A. 2007. J. of Dairy Sci. 90:2580-2595.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. y Ferret A. 2007. J. of Dairy Sci. 90:2580-2595.
- Carro M. y Ranilla M. 2007. British J. of Nutrition 90:617-623.
- Hart K. J., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S. M., McEwan N. R. & Newbold C. J. 2008. Animal Feed Sci. and Technology 147:8-35.
- Isac M. D., García M. A., Aguilera J. F. & Molina Alcaide E. 1994. Archv. Tieremahr. 46:37-50.
- Kamra D. N. 2005. Current Sci. Vol. 89, N° 1.
- Menke, K. H. & Steingass, H. 1988. Animal Research and Development, 7 – 55.
- Macheboeuf D., Morgavi D., Papon Y., Mousset J. & Arturo-Schaan M. 2008. Animal Feed Sci. and Techn. 145:335-350.
- Regulation C. 2003. Official Journal of the European Union L 268.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2008AGL2008-04707-C02-01). G. Martínez agradece la concesión de una beca predoctoral del programa FPI 2009 del Ministerio de Ciencia e Innovación. También se agradece la ayuda técnica a J. Fernández, I. Jiménez y T. García.

### ADDITION OF ESSENTIALS OILS ON THE RUMEN IN VITRO FERMENTATION OF DIETS WITH DIFFERENT DEGRADABILITY USING RUMEN LIQUOR FROM GOATS

**ABSTRACT:** Different doses of essentials oils were incubated *in vitro* for 24 hours in diluted goat's rumen fluid with two experimental diets consisting of a 50:50 forage:concentrate mix, in which the main source of protein and energy differed in the concentrate: diet R (faba beans and oats) and diet L (corn and sunflower meal). Treatments were: control (no additive), essential oils (carvacrol, cinamaldehyde and eugenol) and positive control (PS). The doses used were 40, 80, 160 and 320  $\mu\text{l/l}$  for essential oils and 40, 80, 160  $\mu\text{l/l}$  for synthesised compound (PS). The system used for gas production measure was the new automated *in vitro* system developed by Ankom®. The 24 h gas production decreased ( $P<0,05$ ) with carvacrol, cinamaldehyde and PS at the dose of 320  $\mu\text{l/l}$  for carvacrol and cinamaldehyde and the dose of 160  $\mu\text{l/l}$  for the PS. Diet had effect ( $<0,001$ ) on gas production with carvacrol, cinamaldehyde and eugenol after 24 hours incubation, as decreased in a higher extent when diet L was used as substrate. The VFA production decreased ( $P<0,05$ ) only with carvacrol with the diet L at 320  $\mu\text{l/l}$  dose. The acetate:propionate ratio only decreased ( $P<0,05$ ) with PS at all doses. Results of this experiment suggest that cinamaldehyde and carvacrol at high doses have the potential to modify rumen fermentation in goats and that the effect is influenced by the animal's diet.

**Keywords:** additives, essentials oils, goats, rumen fermentation.

**Tabla 1.** Efecto del carvacrol, cinamaldehído, eugenol y PS sobre la producción de gas a las 24 horas, AGV totales y la proporción acético:propiónico a las 24 horas de incubación.

Aditivo	Dosis (µl/l)	Producción de gas, ml/24 h						AGV totales, mM						Acetato:Propionato											
		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)		Dieta		Significación (P=)					
		R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D	R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D	R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D	R	L	SEM	Dieta	Dosis	D*D
Car.	0	157,3 <sup>a</sup>	156,5 <sup>a</sup>	1,55	<0,001	<0,001	0,120	31,9	31,5 <sup>a</sup>	0,61	0,388	0,029	0,940	3,09	3,04	0,13	0,885	0,542	0,996						
	40	160,7 <sup>a</sup>	149,9 <sup>a</sup>					31,8	31,3 <sup>a</sup>					3,08	3,21										
	80	166,4 <sup>a</sup>	147,3 <sup>a</sup>					32,8	29,9 <sup>ab</sup>					3,40	3,19										
	160	154,5 <sup>a</sup>	127,1 <sup>b</sup>					30,4	28,8 <sup>ab</sup>					3,50	3,50										
	320	131,5 <sup>b</sup>	115,6 <sup>b</sup>					25,9	25,9 <sup>b</sup>					3,71	3,65										
Cin.	0	157,3 <sup>ab</sup>	156,5 <sup>a</sup>	1,96	<0,001	0,046	0,163	31,9	31,5	0,63	0,324	0,796	0,981	3,09	3,04	0,14	0,768	0,934	0,998						
	40	162,0 <sup>ab</sup>	150,7 <sup>a</sup>					32,0	31,6					3,18	3,18										
	80	160,3 <sup>ab</sup>	144,8 <sup>ab</sup>					32,1	30,6					3,11	2,91										
	160	165,8 <sup>a</sup>	137,3 <sup>ab</sup>					31,3	28,7					3,19	3,21										
	320	152,5 <sup>b</sup>	124,75 <sup>b</sup>					30,7	29,4					3,44	3,27										
Eug.	0	157,3	156,5	1,86	<0,001	0,333	0,391	31,9	31,5	0,60	0,341	0,161	0,613	3,09	3,04	0,14	0,934	0,762	0,999						
	40	159,4	141,4					31,9	35,8					3,26	3,12										
	80	163,9	142,8					32,4	31,8					3,26	3,22										
	160	160,5	139,2					27,5	30,7					3,20	3,31										
	320	150,5	137,5					30,5	30,2					3,62	3,63										
PS	0	157,3 <sup>a</sup>	156,5 <sup>a</sup>	2,50	0,045	<0,001	0,490	31,9	31,5	0,54	0,133	0,372	0,919	3,09 <sup>a</sup>	3,04 <sup>a</sup>	0,07	0,820	0,003	0,999						
	40	144,8 <sup>ab</sup>	122,2 <sup>b</sup>					31,5	29,0					2,38 <sup>b</sup>	2,34 <sup>b</sup>										
	80	125,5 <sup>b</sup>	115,2 <sup>b</sup>					29,8	27,5					2,28 <sup>b</sup>	2,28 <sup>b</sup>										
	160	126,8 <sup>b</sup>	117,9 <sup>b</sup>					31,6	29,3					2,29 <sup>b</sup>	2,26 <sup>b</sup>										

R: Dieta de degradabilidad rápida, L: Dieta de degradabilidad lenta, Car.: Carvacrol, Cin.: Cinamaldehído, Eug.: Eugenol, PS: producto de síntesis.  
SEM: error estándar de la media, D\*D: Interacción dosis x dieta.  
Medias con superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la misma columna (P<0.05).